

JUSTYNA LIBERA, ZBIGNIEW J. DOLATOWSKI

WPLYW BAKTERII PROBIOTYCZNYCH *LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS* (BAUER) I *BIFIDOBACTERIUM BIFIDUM* NA ZMIANY TŁUSZCZU W MIĘSNYCH WYROBACH SUROWO DOJRZEWAJĄCYCH PODCZAS PRZECHOWYWANIA

Streszczenie

Celem pracy było określenie zmian oksydacyjnych w baleronach surowo dojrzewających z dodatkiem bakterii probiotycznych z rodzaju *Lactobacillus* i *Bifidobacterium* podczas czteromiesięcznego chłodniczego przechowywania.

Przygotowano cztery warianty doświadczalne wyrobów: kontrolny – bez dodatku probiotyku (K) i trzy warianty z dodatkiem probiotyków: *Lactobacillus acidophilus* Bauer (W1), *Bifidobacterium bifidum* (W2), *Lactobacillus acidophilus* Bauer oraz *Bifidobacterium bifidum* w mieszaninie 1 : 1 (W3). Mięso peklowano przez 72 h metodą suchą z 3-procentowym dodatkiem mieszanki peklującej (peklosól, sól morską oraz azotan(V) sodu), następnie dodawano 0,05 % askorbinianu sodu, 1,2 % glukozy oraz bakterie probiotyczne w ilości 2×10^6 jtk/g mięsa. Po dojrzewaniu w temperaturze 16 °C przez 21 dni wyroby zapakowano próżniowo i przechowywano przez cztery miesiące w temperaturze 4 °C. W próbach oznaczono: kwasowość czynną (pH), liczbę kwasową, liczbę nadtlenkową, liczbę p-anizydynową, wskaźnik TBARS oraz parametry barwy tkanki tłuszczowej i tkanki mięśniowej w systemie CIE L*a*b*.

Stwierdzono, że kwasowość utrzymywała się we wszystkich próbach na zbliżonym poziomie przez cały okres przechowywania. Najniższe wartości pH obserwowano w próbie W3 (po dojrzewaniu – 5,41, po dwóch miesiącach przechowywania – 5,20 i po czterech – 5,80). Stwierdzono statystycznie istotny ($p < 0,05$) wzrost wartości liczby kwasowej we wszystkich próbach podczas przechowywania. Po czteromiesięcznym przechowywaniu wykazano około trzykrotny wzrost zawartości wolnych kwasów tłuszczowych w wariantcie K (39,31 mg KOH/g tłuszczu) w porównaniu z wartością po dwumiesięcznym przechowywaniu (12,95 mg KOH/g tłuszczu). W pozostałych próbach wzrost liczby kwasowej był niższy. Najniższą wartością liczby nadtlenkowej po dwumiesięcznym przechowywaniu charakteryzowała się próba W2 (0,25 meq/kg tłuszczu), w której po czterech miesiącach chłodniczego przechowywania liczba nadtlenkowa osiągnęła wartość 0,80 meq/kg tłuszczu. Wartość wskaźnika TBARS we wszystkich wariantach badawczych utrzymywała się na niskim poziomie przez pierwsze dwa miesiące przechowywania, po czym zwiększyła się istotnie ($p < 0,05$) po czwartym miesiącu – do 2,35 mg MDA/kg produktu w próbie

Mgr inż. J. Libera, prof. dr hab. Z. J. Dolatowski, Katedra Technologii Mięsa i Zarządzania Jakością, Wydz. Nauk o Żywności i Biotechnologii, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Skromna 8, 20-704 Lublin. Kontakt: justyna.libera@up.lublin.pl

kontrolnej, natomiast w próbach z probiotykami W1, W2 i W3 odpowiednio do: 1,81, 0,97 i 1,16 mg MDA/kg produktu. Spektrofotometryczna ocena parametrów barwy produktu nie wykazała istotnych zmian pod względem wartości L*, a* i b* we wszystkich wariantach po produkcji i podczas chłodniczego przechowywania.

Wykazano, że bakterie probiotyczne dodane w procesie produkcji do baleronów surowo dojrzewających wpłynęły na hamowanie przemian oksydacyjnych tych wyrobów podczas dojrzewania i czteromiesięcznego przechowywania.

Słowa kluczowe: balerony surowo dojrzewające, probiotyki, oksydacja tłuszczu, przechowywanie

Wprowadzenie

Produkty pochodzenia zwierzęcego są źródłem pełnowartościowych białek, tłuszczów, witamin z grupy B i mikroelementów, m.in. żelaza i cynku. Tłuszcze stanowią podstawowe źródło energii oraz biorą udział w budowaniu błon komórkowych, hormonów steroidowych i witamin rozpuszczalnych w tłuszczach. Lipidy mięsa zawierają wielonienasycone kwasy tłuszczowe, których poziom zależy m.in. od gatunku zwierzęcia, jego wieku i rasy. Skład profilu lipidowego mięsa wieprzowego można wzbogacić w prozdrowotne składniki (m.in. z rodziny omega 3) odpowiednio modyfikując paszę dla zwierząt [13]. Wieprzowina zawiera od 10 do 50 % tłuszczu, przy czym około połowę tej wartości stanowią wyższe nienasycone kwasy tłuszczowe, głównie oleinowy (C18:1) [11]. Balerony są wyrobami mięsnymi, produkowanymi z karkówki wieprzowej, o dużej zawartości tłuszczu śródmięśniowego (16 - 30 %), a więc bardzo podatnymi na utlenianie. Procesy oksydacyjne zachodzące podczas przechowywania produktów mięsnych powodują niepożądane zmiany, m.in. tworzenie szeregu niekorzystnych dla organizmu człowieka związków chemicznych, tj. dialdehyd malonowego i 4-hydroksynonenalu [2, 3, 5, 11]. W celu spowolnienia tych reakcji, do produkcji wędlin surowo dojrzewających dodawane są naturalne lub syntetyczne substancje przeciwutleniające [9, 10, 19, 21]. Probiotyki, należące do bakterii kwasu mlekowego, również mogą stabilizować procesy oksydacyjne zachodzące podczas przechowywania wędlin surowo dojrzewających [21].

Celem pracy była ocena zmian oksydacyjnych w baleronach surowo dojrzewających wyprodukowanych z dodatkiem bakterii probiotycznych *Lactobacillus acidophilus* Bauer i *Bifidobacterium bifidum*, podczas chłodniczego czteromiesięcznego przechowywania.

Material i metody badań

Materiałem doświadczalnym był baleron surowo dojrzewający, wyprodukowany w warunkach półtechnicznych Katedry Technologii Mięsa i Zarządzania Jakością UP w Lublinie. Bakterie probiotyczne *Lactobacillus acidophilus* Bauer i *Bifidobacterium*

bifidum pochodziły z kolekcji Katedry Technologii Gastronomicznej i Higieny Żywności SGGW w Warszawie. Z tusz wieprzowych rasy wielka biała polska, o zbliżonej masie przyżyciowej, wykrawano mięso i dzielono je na porcje o masie ok. 1 kg. Próby peklowano przez 72 h metodą suchą, stosując 3-procentowy dodatek mieszanki peklującej (16,58 g chlorku sodu, 13 g soli morskiej, 0,27 g azotanu(III) sodu i 0,15 g azotanu(V) sodu). Następnie dodawano 0,05 % askorbinianu sodu, 1,2 % glukozy oraz inokulum szczepu probiotycznego w ilości 2×10^6 jtk/g mięsa (tab. 1). W przypadku próby W3 mieszaninę szczepów bakterii przygotowano poprzez zmieszanie inokulum o jednakowej liczbie komórek *Lactobacillus acidophilus* Bauer i *Bifidobacterium bifidum*. Układem odniesienia była próba kontrolna wyprodukowana bez dodatku drobnoustrojów probiotycznych. Otrzymano cztery warianty doświadczalne (tab. 1), które poddawano dojrzewaniu w temp. 16 °C przez 21 dni. Po zakończonym procesie dojrzewania próby pakowano próżniowo w woreczki polietylenowe i przechowywano w warunkach chłodniczych (4 ± 1 °C) przez cztery miesiące. Badania wykonywano bezpośrednio po dojrzewaniu, po dwóch oraz czterech miesiącach chłodniczego przechowywania.

Tabela 1. Warianty badawcze baleronów surowo dojrzewających z dodatkiem bakterii probiotycznych.
Table 1. Variants of dry-fermented pork neck with probiotic bacteria added.

Wariant Variant	Bakterie probiotyczne / Probiotic bacteria	Inne dodatki Other additives
K	-	Askorbinian sodu Sodium ascorbate
W1	<i>Lactobacillus acidophilus</i> Bauer – 2×10^6 jtk/g	– 0,05 %
W2	<i>Bifidobacterium bifidum</i> – 2×10^6 jtk/g	Glukoza Glucose
W3	<i>Lactobacillus acidophilus</i> Bauer + <i>Bifidobacterium bifidum</i> – 2×10^6 jtk/g	– 1,2 %

Badania obejmowały oznaczenie kwasowości czynnej (pH) [14], liczby kwasowej tłuszczu (AV) [17], liczby nadtlenkowej (PV) [15], liczby p-anizydynowej (p-AV) [16], wskaźnika TBARS [12] oraz parametrów barwy tkanki mięśniowej i tłuszczowej w systemie CIE L*a*b*. Tłuszcz do analiz ekstrahowano metodą Folcha i wsp. [4]. Używano mieszaniny metanolu i chloroformu (1 : 2). Parametry barwy tkanki mięśniowej oznaczano w wykrojonych z baleronu sześciątach o boku 20 mm. Tkanekę tłuszczową wycinano z plastra baleronu, umieszczano w folii polietylenowej i prasowano w celu otrzymania jednolitej powierzchni. Parametry barwy oznaczano przy użyciu spektrofotometru sferycznego X-Rite z otworem pomiarowym o średnicy

13 mm. Do badań zastosowano światło D65 i obserwator kolorymetryczny o polu widzenia 10°. Jako źródło odniesienia zastosowano wzorzec bieli ($L^* = 95,87$, $a^* = -0,49$, $b^* = 2,39$).

Przeprowadzono dwie serie badań w trzech powtórzeniach każdego z badanych wyróżników. Do interpretacji wyników zastosowano dwuczynnikową analizę wariancji (rodzaj probiotyku i okres przechowywania). Istotność różnic pomiędzy wartościami średnimi grup weryfikowano testem Tukeya na poziomie istotności $p < 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Najniższe wartości pH oznaczono w próbie z dodatkiem szczepów *Lactobacillus acidophilus* Bauer i *Bifidobacterium bifidum* (W3) we wszystkich etapach doświadczenia. Wartość pH baleronów po produkcji wynosiła 5,41, a po czterech miesiącach przechowywania – 5,80 (rys. 1). Wartości te były statystycznie istotnie ($p < 0,05$) niższe niż pH prób pozostałych wariantów.

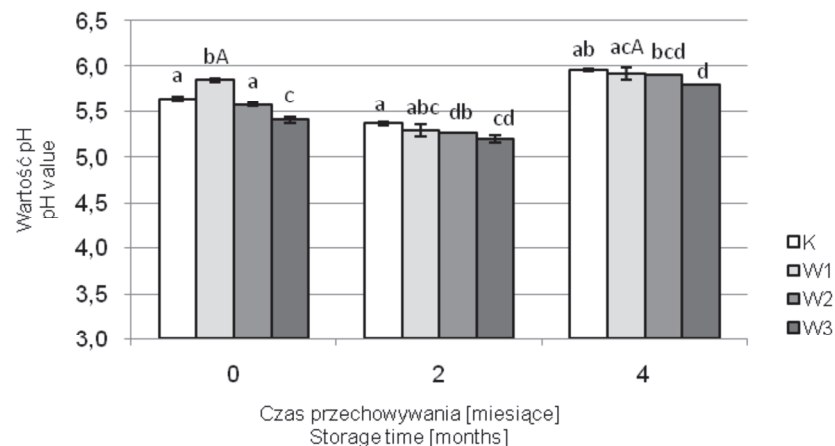
Wyższe wartości pH po dojrzewaniu stwierdzono w próbach: kontrolnej (K) – 5,64, w próbie z dodatkiem szczepu *Lactobacillus acidophilus* Bauer (W1) – 5,86 i w próbie z dodatkiem szczepu *Bifidobacterium bifidum* (W2) – 5,58. Wartości pH tych prób utrzymywały się na podobnym poziomie podczas długotrwałego przechowywania, a po czterech miesiącach wzrosły do 5,96 (K), 5,92 (W1) oraz 5,91 (W2).

We wszystkich próbach zaobserwowano obniżenie wartości pH po dwumiesięcznym przechowywaniu (o 0,2 - 0,5 jednostki), a następnie statystycznie istotny ($p < 0,05$) wzrost wartości pH (o ok. 0,6 jednostki) po czterech miesiącach przechowywania. Podobne relacje obniżania się wartości pH po dwóch miesiącach przechowywania, a następnie wzrastania tej wartości stwierdzili Wójciak i wsp. [21] w potencjalnie probiotycznych kielbasach oraz Stadnik i Dolatowski [18] w połówkach surowo dojrzewających. Lorenzo i Franco [8] przypuszczają, że wzrost wartości pH kielbas surowo dojrzewających po długotrwałym okresie przechowywania może być powodowany wzrostem ilości produktów rozpadu białek, działających buforująco na kwasy organiczne.

Stwierdzono wysoką zawartość wolnych kwasów tłuszczowych we wszystkich wariantach baleronów (rys. 2).

Zarówno bezpośrednio po 21-dniowym okresie dojrzewania, jak i po dwóch miesiącach chłodniczego przechowywania wartości liczby kwasowej wszystkich wariantów były na zbliżonym poziomie (od 8,60 do 14,67 mg KOH/g tłuszczu). Po cztero-miesięcznym przechowywaniu stwierdzono co najmniej dwukrotny wzrost zawartości wolnych kwasów tłuszczowych we wszystkich wariantach doświadczalnych: w próbie kontrolnej (K) – do 39,31 mg KOH/g tłuszczu, w próbie z dodatkiem *Lactobacillus acidophilus* Bauer (W1) – do 28,72 mg KOH/g tłuszczu, w próbie z dodatkiem *Bifidobacterium bifidum* (W2) – do 30,93 mg KOH/g tłuszczu i w próbie z dodatkiem szcze-

pów *Lactobacillus acidophilus* Bauer i *Bifidobacterium bifidum* (W3) – do 26,76 mg KOH/g tłuszczu. Zaobserwowano w tym okresie statystycznie istotnie ($p < 0,05$) niższe wartości liczby kwasowej w próbach zawierających bakterie probiotyczne w porównaniu z wynikami próby kontrolnej.



Objaśnienia: Explanatory notes:

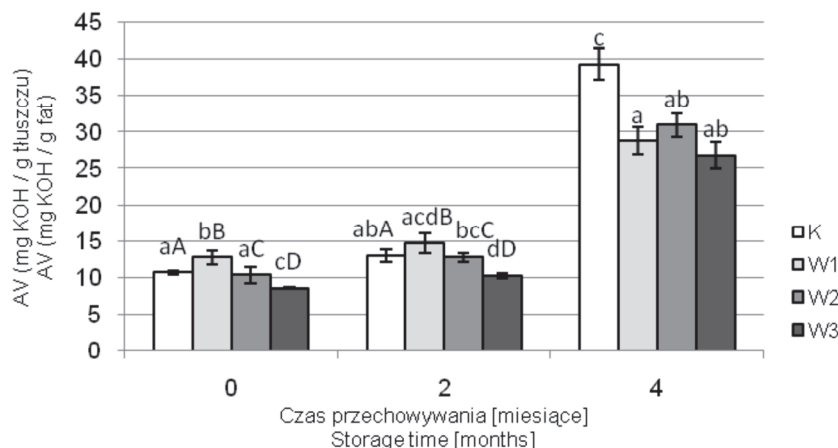
K – próba bez bakterii probiotycznych / sample without probiotic bacteria; W1 – z *Lactobacillus acidophilus* Bauer / with *Lactobacillus acidophilus* Bauer; W2 – z *Bifidobacterium bifidum* / with *Bifidobacterium bifidum*; W3 – z *Lactobacillus acidophilus* Bauer i *Bifidobacterium bifidum* w mieszaninie (1 : 1) / with *Lactobacillus acidophilus* Bauer and *Bifidobacterium bifidum* in mixture (1 : 1);

0 – bezpośrednio po zakończeniu 21-dniowego dojrzewania / immediately after 21-day period of ripening; 2 – po dwóch miesiącach chłodniczego przechowywania / after two months of refrigeration storage; 4 – po czterech miesiącach chłodniczego przechowywania / after four month refrigeration storage;

a, b, c – wartości średnie oznaczone tą samą małą literą nie różnią się statystycznie istotnie na poziomie $p < 0,05$ w obrębie tej samej grupy obejmującej próbę kontrolną i próby z probiotykami / mean values denoted by the same small letter do not differ statistically significantly within the same group, which comprises both the control sample and the samples with probiotic bacteria at $p < 0.05$; A (B, C, D – rys. 2/ Fig. 2) – wartości średnie oznaczone tą samą dużą literą nie różnią się statystycznie istotnie na poziomie $p < 0,05$ w obrębie tej samej grupy obejmującej czas przechowywania / mean values denoted by the same capital letter do not differ statistically significantly at $p < 0.05$ within the same group comprising the storage time.

Rys. 1. Wartość pH baleronów surowo dojrzewających z dodatkiem bakterii probiotycznych podczas przechowywania.

Fig. 1. pH value of dry-fermented pork necks with probiotic bacteria added during storage.



Objaśnienia jak pod rys. 1. Explanatory notes as in Fig. 1.

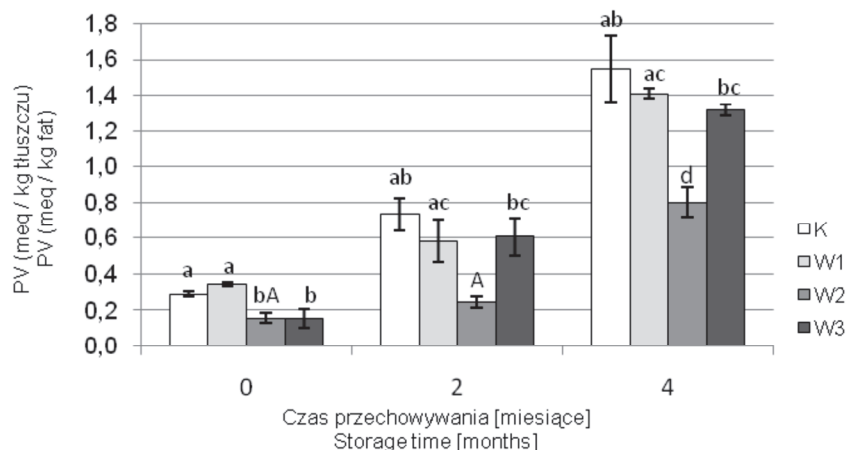
Rys. 2. Wartość liczby kwasowej (AV) baleronów surowo dojrzewających z dodatkiem bakterii probiotycznych podczas przechowywania.

Fig. 2. Acid value (AV) of dry-fermented pork necks with probiotic bacteria added during storage.

W wielu badaniach autorzy obserwują zwiększającą się zawartość wolnych kwasów tłuszczowych w wyrobach mięsnych surowo dojrzewających podczas przechowywania, [5, 9, 10]. Visessanguan i wsp. [20] stwierdzili, że zawartość wolnych kwasów tłuszczowych w kiełbasach fermentowanych zwiększała się o 50 % podczas każdej kolejnej doby w czasie 7-dniowego przechowywania. Autorzy twierdzą, że zawartość wolnych kwasów tłuszczowych w tłuszczu zależy od wielu czynników, m.in. od surowca stosowanego do produkcji, sposobu wytwarzania wędlin, rozdrobnienia surowca czy zastosowanych dodatków. Lorenzo i Franco [8] przypuszczają, że przyczyną wysokich wartości liczby kwasowej może być zwiększone działanie lipolityczne kultur startowych.

Badania stopnia oksydacji tłuszczu (rys. 3) wykazały niski poziom nadtlenków bezpośrednio po zakończeniu 21-dniowego okresu dojrzewania: w próbie kontrolnej (K) – 0,29 meq/kg tłuszczu, w próbie z *Lactobacillus acidophilus* Bauer (W1) – 0,34 meq/kg tłuszczu, w próbie z *Bifidobacterium bifidum* (W2) – 0,16 meq/kg tłuszczu oraz w próbie z *Lactobacillus acidophilus* Bauer i *Bifidobacterium bifidum* (W3) – 0,15 meq/kg tłuszczu. Po dwóch i czterech miesiącach chłodniczego przechowywania w opakowaniach próżniowych zaobserwowano wyższe wartości liczby nadtlenkowej, odpowiednio: ok. 0,6 meq/kg tłuszczu i ok. 1,4 meq/kg tłuszczu w wariantach K, W1 i W3. Statystycznie istotnie ($p < 0,05$) niższy poziom nadtlenków stwierdzono w próbach ze szczepem *Bifidobacterium bifidum* (W2) podczas dwu- i czteromiesięcznego okresu przechowywania. Wyniki te pozwalają przypuszczać, że szczep *Bifidobacte-*

rium bifidum hamuje powstawanie nadtlenków w produkcie podczas przechowywania. Potwierdzają to Lin i Yen [7], którzy badali modelowe układy lipidowe z bakteriami *Lactobacillus acidophilus* i *Bifidobacterium longum* i wykazali, że siedem z ośmiu badanych szczepów hamowało utlenianie kwasu linolowego.



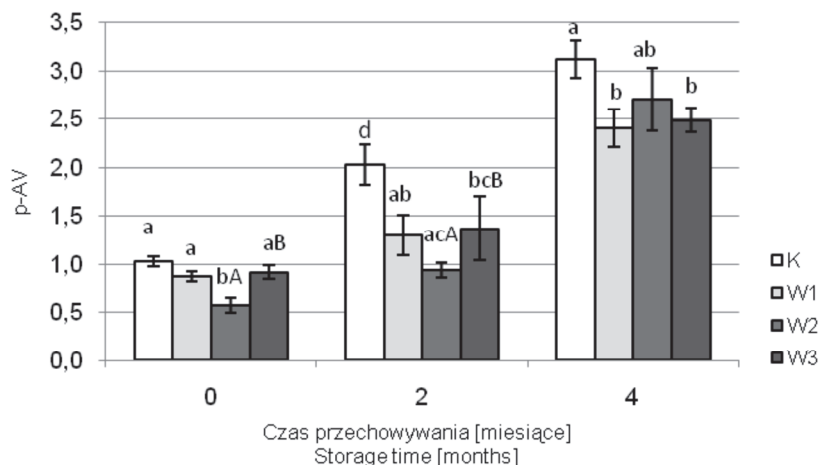
Objaśnienia jak pod rys. 1. Explanatory notes as in Fig. 1.

Rys. 3. Wartość liczby nadtlenkowej (PV) baleronów surowo dojrzewających z dodatkiem bakterii probiotycznych podczas przechowywania.

Fig. 3. Peroxide value (PV) of dry-fermented pork necks with probiotic bacteria added during storage.

Podobną, niską zawartość nadtlenków (0,30 meq/kg tłuszczu) w okresie do dwóch miesięcy przechowywania kiełbas surowo dojrzewających z dodatkiem probiotyku zauważyli Wójciak i wsp. [21]. Hernandez i wsp. [6] stwierdzili czterokrotnie mniejszą zawartość nadtlenków (0,69 meq/kg tłuszczu) w polędwicy fermentowanej niż w polędwicy surowej świeżej (2,43 meq/kg tłuszczu).

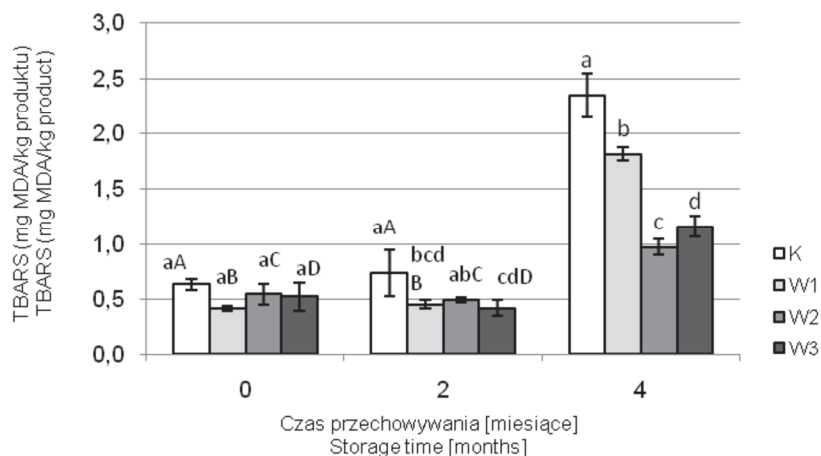
Zawartość wtórnych produktów oksydacji tłuszczu wyrażono liczbą p-anizydynową p-AV (rys. 4) i wskaźnikiem TBARS (rys. 5). Stwierdzono, że po czteromiesięcznym przechowywaniu zwiększyła się istotnie ($p < 0,05$) ilość wtórnych produktów utlenienia tłuszczu we wszystkich wariantach, w porównaniu do wartości otrzymanych bezpośrednio po 21-dniowym dojrzewaniu prób. W pierwszych dwóch etapach badań, tj. po dojrzewaniu i dwumiesięcznym przechowywaniu, w próbie z dodatkiem szczepu *Bifidobacterium bifidum* (W2) stwierdzono najniższe wartości p-AV (odpowiednio: 0,57 i 0,93). Najwyższe wartości liczby p-anizydynowej stwierdzono w próbie kontrolnej (K): po dojrzewaniu – 1,03, po 2 miesiącach przechowywania – 2,02 oraz po 4 miesiącach – 3,12. Wartości te były wyższe od wyników oznaczeń prób zawierających bakterie probiotyczne.



Objaśnienia jak pod rys. 1. Explanatory notes as in Fig. 1.

Rys. 4. Wartość liczby p-anizydynowej baleronów surowo dojrzewających z dodatkiem bakterii probiotycznych podczas przechowywania.

Fig. 4. P-anisidine value (p-AV) of dry-fermented pork necks with probiotic bacteria added during storage.



Objaśnienia jak pod rys. 1. Explanatory notes as in Fig. 1.

Rys. 5. Wartość wskaźnika TBARS baleronów surowo dojrzewających z dodatkiem bakterii probiotycznych podczas przechowywania.

Fig. 5. The TBARS value of dry-fermented pork necks with probiotic bacteria added during storage.

Analiza wskaźnika TBARS wykazała niski i zbliżony we wszystkich próbach poziom substancji reagujących z kwasem tiobarbiturowym po dojrzewaniu i po dwóch miesiącach przechowywania.

Po czteromiesięcznym okresie przechowywania stwierdzono statystycznie istotny ($p < 0,05$) wzrost wskaźnika TBARS, w porównaniu do pierwszych dwóch etapów badań, tj. po 21-dniowym dojrzewaniu i dwumiesięcznym przechowywaniu. Najwyższy poziom wtórnych produktów utlenienia tłuszczu stwierdzono w próbie kontrolnej (2,35 mg MDA/kg produktu) po czterech miesiącach chłodniczego przechowywania. W wariantach z probiotykami W1, W2 i W3 po tym czasie stwierdzono niższe wartości wskaźnika TBARS, odpowiednio [mg MDA/kg produktu]: 1,81, 0,97 i 1,16. Zwiększone ilości dialdehydu malonowego, a tym samym wartości TBARS podczas dojrzewania i przechowywania w fermentowanych kiełbasach wykazali też inni autorzy [3, 5, 6, 9, 11, 21].

Można sądzić, że przyczyną stosunkowo niewielkich wartości wskaźnika TBARS obserwowanych po dwóch miesiącach przechowywania, jest niski poziom pierwotnych produktów utleniania tłuszczu (nadtlenków). Antequera i wsp. [1] przypuszczają, że przyczyną niskich wartości wskaźnika TBARS mogą być również reakcje aldehydów z wolnymi grupami aminowymi i peptydami, powstającymi podczas proteolizy białek.

Po przeanalizowaniu zmian barwy tkanki mięśniowej (tab. 2) i tłuszczowej (tab. 3) wykazano, że jasność (L^*) barwy tkanki mięśniowej była zbliżona we wszystkich wariantach i nieznacznie wzrastała w kolejnych miesiącach. Istotną ($p < 0,05$) zmianę jasności tkanki mięśniowej podczas przechowywania stwierdzono w wariantcie z dodatkiem szczepów *Lactobacillus acidophilus* Bauer i *Bifidobacterium bifidum* (W3) – z 34,55 po dojrzewaniu do 54,89 w ostatnim etapie przechowywania. Wszystkie warianty baleronów charakteryzowały się stabilną wartością parametru a^* (udział barwy czerwonej) po 21-dniowym dojrzewaniu i po dwóch miesiącach przechowywania. Po 4 miesiącach przechowywania w dwóch wariantach K i W3 stwierdzono statystycznie istotne ($p < 0,05$) zmiany nasycenia barwy czerwonej w tkance mięśniowej baleronów, w porównaniu z wynikami uzyskanymi po 2 miesiącach przechowywania. Nastąpiło zmniejszenie wartości parametru barwy czerwonej w próbie kontrolnej (K) z 11,77 do 7,38 oraz w próbie z mieszaniną bakterii *Lactobacillus acidophilus* Bauer i *Bifidobacterium bifidum* (W3) z 10,01 do 6,24.

Wartości parametru barwy żółtej (b^*) tkanki mięśniowej we wszystkich wariantach, na każdym z badanych etapów badań były zbliżone (na poziomie 6 - 10 jednostek). Istotne ($p < 0,05$) zmiany wartości b^* stwierdzono w próbie kontrolnej (K) i w próbie z dodatkiem mieszaniny *Lactobacillus acidophilus* Bauer i *Bifidobacterium bifidum* (W3). W próbie K wartość parametru b^* zmniejszyła się z 8,92 po dojrzewaniu do 6,27 po 4 miesiącach przechowywania. W wariantcie W3 zaobserwowano od-

wrotną tendencję, tzn. istotny wzrost wartości parametru b^* z 6,39 bezpośrednio po dojrzewaniu do 9,94 po czteromiesięcznym przechowywaniu.

Tabela 2. Wartości parametrów barwy tkanki mięśniowej baleronów surowo dojrzewających z dodatkiem bakterii probiotycznych podczas przechowywania.

Table 2. Colour parameters of muscle tissues of dry-fermented pork necks with probiotic bacteria added during storage.

Parametr barwy Colour parameter		Czas przechowywania [miesiące] Storage time [months]	Wariant / Variant			
			K	W1	W2	W3
L^*	\bar{x}	0	40,78 ^{aA}	34,59 ^{aB}	37,57 ^{aD}	34,55 ^{aE}
	SD		1,93	3,28	5,26	1,97
	\bar{x}	2	41,44 ^{aA}	45,21 ^{aC}	38,97 ^{aD}	42,01 ^{aE}
	SD		3,08	5,71	4,43	0,51
	\bar{x}	4	44,45 ^{aA}	44,21 ^{aBC}	43,99 ^{aD}	54,89
	SD		3,84	2,00	0,95	5,86
a^*	\bar{x}	0	11,77 ^{bF}	12,04 ^{bG}	10,14 ^{bH}	10,01 ^{bl}
	SD		0,46	1,26	1,78	0,95
	\bar{x}	2	10,73 ^{bF}	10,60 ^{bG}	11,67 ^{bH}	10,61 ^{bl}
	SD		0,53	0,52	1,50	0,50
	\bar{x}	4	7,38 ^b	10,41 ^{cG}	10,00 ^{cH}	6,24 ^b
	SD		1,27	2,17	0,94	1,84
b^*	\bar{x}	0	8,92 ^{dg}	7,56 ^{defK}	7,38 ^{eghL}	6,39 ^{fhM}
	SD		1,00	0,71	0,75	0,39
	\bar{x}	2	6,80 ^{dj}	7,96 ^{dk}	7,04 ^{dL}	7,90 ^{dmN}
	SD		0,35	1,66	0,90	0,91
	\bar{x}	4	6,27 ^j	8,46 ^{dk}	8,16 ^{dL}	9,94 ^{dN}
	SD		0,66	0,18	0,20	0,76

Objaśnienia: / Explanatory notes: \bar{x} - wartość średnia / mean value; SD – odchylenie standardowe / standard deviation; $n = 3$; wartości średnie oznaczone tą samą małą literą w wierszach oraz dużą literą w kolumnach nie różnią się statystycznie istotnie na poziomie $p < 0,05$ / mean values denoted by the same small letter in rows and by the same capital letter in columns are not significantly different at $p < 0.05$.

Nie stwierdzono statystycznie istotnych ($p < 0,05$) różnic pomiędzy wartościami parametrów L^* i b^* barwy tkanki tłuszczowej baleronów. W wariantach K i W3 bezpośrednio po dojrzewaniu stwierdzono istotnie ($p < 0,05$) wyższy od pozostałych wariantów poziom parametru a^* . Po dwumiesięcznym przechowywaniu, we wszystkich wariantach baleronów zaobserwowano wzrost wartości parametru a^* , przy czym próby nie różniły się między sobą istotnie ($p < 0,05$). Po czteromiesięcznym przechowywaniu

wartości te uległy zróżnicowaniu. W próbie z dodatkiem szczepu *Bifidobacterium bifidum* (W2) stwierdzono obniżenie wartości parametru a^* z 5,29 do 3,37, natomiast w próbie z dodatkiem szczepów *Lactobacillus acidophilus* Bauer i *Bifidobacterium bifidum* (W3) – wzrost: z 5,67 do 7,59.

Tabela 3. Wartości parametrów barwy tkanki tłuszczowej baleronów surowo dojrzewających z dodatkiem bakterii probiotycznych podczas przechowywania.

Table 3. Colour parameters of adipose tissue of dry-fermented pork necks with probiotic bacteria added during storage.

Parametr barwy Colour parameter		Czas przechowywania [miesiące] Storage time [months]	Wariant / Variant			
			K	W1	W2	W3
L*	\bar{x}	0	77,88 ^{aA}	74,71 ^{aB}	75,67 ^{aCD}	74,99 ^a
	SD		1,43	2,26	1,04	4,18
	\bar{x}	2	77,45 ^{aA}	72,77 ^{aB}	75,01 ^{aC}	69,64 ^a
	SD		2,85	7,71	1,38	6,33
	\bar{x}	4	77,11 ^{aA}	78,52 ^{aB}	78,24 ^{aD}	73,80 ^a
	SD		0,79	7,98	0,47	5,02
a*	\bar{x}	0	4,09 ^{bE}	2,14 ^c	2,77 ^{cH}	4,68 ^{bI}
	SD		0,30	0,31	0,15	0,49
	\bar{x}	2	6,54 ^{bF}	0,56 ^{bG}	5,29 ^b	5,67 ^{bIJ}
	SD		1,16	1,71	0,65	0,56
	\bar{x}	4	5,55 ^{bcDEF}	4,88 ^{bcFG}	3,37 ^{ceH}	7,59 ^{dIJ}
	SD		1,20	1,48	0,45	1,50
b*	\bar{x}	0	10,01 ^{gKL}	8,52 ^{gL}	7,86 ^g	9,55 ^{gO}
	SD		0,40	0,66	0,01	1,96
	\bar{x}	2	9,33 ^{ghK}	10,17 ^{gijML}	10,69 ^{hikN}	11,88 ^{jkOP}
	SD		1,38	0,47	0,59	0,68
	\bar{x}	4	11,58 ^{gL}	11,00 ^{gM}	12,13 ^{gN}	13,20 ^{gP}
	SD		0,50	1,04	0,70	1,69

Objaśnienia jak pod tab. 2. Explanatory notes as in Tab. 2.

Wnioski

1. Zastosowanie do produkcji wyrobów mięsnych surowo dojrzewających o wysokiej zawartości tłuszczu (baleronów) dodatku bakterii probiotycznych *Lactobacillus acidophilus* Bauer i *Bifidobacterium bifidum* spowodowało zahamowanie procesów oksydacyjnych podczas fermentacji i czteromiesięcznego okresu przechowywania.

2. Z badanych szczepów probiotycznych szczep *Bifidobacterium bifidum* skuteczniej hamował procesy utleniania tłuszczu w porównaniu z *Lactobacillus acidophilus* Bauer.
3. Procesy oksydacyjne zachodzące w tłuszczu baleronów surowo dojrzewających w czasie ich przechowywania nie spowodowały istotnych zmian barwy tkanki mięśniowej i tłuszczowej.

Literatura

- [1] Antequera T., Lopez-Bote C.J., Cordoba J.J., Garcia C., Asensio M.A., Ventanas, J., Garcia-Regueiro J.A., Diaz I.: Lipid oxidative changes in the processing of iberian pig hams. *Food Chem.*, 1992, **45**, 105-110.
- [2] Choe E., Min D.B.: Mechanisms of antioxidants in the oxidation of foods. *CRFSFS*, 2009, **8**, 345-358.
- [3] Coutron-Gambotti C., Gandemer G.: Lipolysis and oxidation in subcutaneous adipose tissue during dry-cured ham processing. *Food Chem.*, 1999, **64**, 95-101.
- [4] Folch J., Lees M., Sloane S.G.H.: A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J.Biol. Chem.*, 1957, **226**, 497-509.
- [5] Gambacorta, G., Sinigaglia, M., Schena, A., Baiano, A., Lamacchia, C., Patti, S, La Notte E.: Changes in free fatty acid and diacylglycerol compounds in short-ripening dry-cured sausage. *J. Food Lipids*, 2009, **16**, 1-18.
- [6] Hernandez P., Navarro J.L., Toldrá F.: Lipolytic and oxidative changes in two Spanish pork loin products: dry-cured loin and pickled-cured loin. *Meat Sci.*, 1999, **51**, 123-128.
- [7] Lin M.Y., Yen C.L.: Inhibition of lipid peroxidation by *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium longum*. *J. Agric. Food Chem.*, 1999, **47**, 3661-3664.
- [8] Lorenzo J.M., Franco D.: Fat effect on physico-chemical, microbial and textural changes through the manufactured of dry-cured foal sausage lipolysis, proteolysis and sensory properties. *Meat Sci.*, 2012, **92**, 704-714.
- [9] Lücke F.K.: Utilization of microbes to process and preserve meat. *Meat Sci.* 2000, **56**, 105-115.
- [10] Martín-Sánchez, A.M., Chaves-López, C., Sendra, E., Sayas, E., Fenández-López, J., Pérez-Álvarez, J.A.: Lipolysis, proteolysis and sensory characteristics of a Spanish fermented dry-cured meat product (salchichón) with oregano essential oil used as surface mold inhibitor. *Meat Sci.*, 2011, **89**, 35-44.
- [11] Olivares A., Navarro J.L., Flores M.: Effect of fat content on aroma generation during processing of dry fermented sausages. *Meat Sci.*, 2011, **87**, 264-273.
- [12] Pikul J., Leszczyński D.E., Kummerow F.A.: Evaluation of three modified TBA methods for measuring lipid oxidation in chicken meat. *J. Agric. Food Chem.*, 1989, **37**, 1309-1313.
- [13] Piotrowska A., Świąder K., Waszkiewicz-Robak B., Świdorski F.: Możliwości uzyskania mięsa i przetworów z mięsa wieprzowego o podwyższonej zawartości wielonienasyconych kwasów tłuszczowych n-3. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2012, **5** (84), 5-19.
- [14] PN ISO 2917:2001. Mięso i przetwory mięsne. Pomiar pH. Metoda odwoławcza.
- [15] PN-EN ISO 3960:2012. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby nadtlenkowej. Jodometryczne (wizualne) oznaczanie punktu końcowego.
- [16] PN-EN ISO 6885:2008. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby anizydynowej.
- [17] PN-EN ISO 660:2010. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby kwasowej i zawartości wolnych kwasów tłuszczowych.
- [18] Stadnik J., Dolatowski Z.J.: Changes in selected parameters related to proteolysis during ageing of dry-cured pork loins inoculated with probiotic. *Food Chem.*, 2013, **139**, 67-71.

- [19] Toldrá F., Reig M.: Innovations for healthier processed meats. Trends Food Sci. Technol., 2011, **22**, 517-522.
- [20] Visessanguan W., Benjakul S., Riebroy S., Yarchai M., Tapingkae W.: Changes in lipid composition and fatty acid profile of Nham, a Thai fermented pork sausage, during fermentation. Food Chem., 2006, **94**, 580-588.
- [21] Wójciak K.M., Kołożyn-Krajewska D., Trzaskowska M., Dolatowski Z.J.: Effects on physico-chemical properties and oxidative stability of dry fermented sausages during chilling storage. Fleischwir. Int., 2013, **1**, 53-60.

EFFECT OF *LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS* (BAUER) AND *BIFIDOBACTERIUM BIFIDUM* PROBIOTIC BACTERIA ON CHANGES IN FAT IN DRY-FERMENTED MEAT PRODUCTS DURING STORAGE

S u m m a r y

The objective of the research study was to assess the oxidative changes in dry-fermented meat products with the addition of probiotic bacteria of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* genere during four-month refrigeration storage.

Four experimental variants of the products were prepared: control sample without any probiotic strain added (K) and three samples with the addition of probiotic strains of *Lactobacillus acidophilus* Bauer (W1), *Bifidobacterium bifidum* (W2), *Lactobacillus acidophilus* Bauer, and *Bifidobacterium bifidum* in a 1: 1 mixture (W3). The meat was cured during a period of 72 hrs with use of a dry method and with a 3% curing mixture (sodium chloride, sodium nitrite, sodium nitrate) added. Next, 0.05% sodium ascorbate, 1.2% glucose, and probiotic bacteria, amounting to 2×10^6 cfu/g of meat, were added. After ripening at a temperature of 16°C for 21 days, the products were vacuum-packed and stored at a temperature of 4 °C for 4 months. In the samples, the following parameters of adipose and muscle tissues were determined: active acidity (pH value), acid value, peroxide value, p-anisidine value, TBARS index, and colour parameters in the CIE L*a*b* system.

It was found that in all the samples the acidity was on a similar level during the storage period. The lowest pH values were found in the W3 sample (after ripening– 5.41; after two months of storage - 5.20; after four months – 5.80). A statistically significant ($p < 0.05$) increase was found in the acid value of all the samples during their storage. Almost a threefold increase in the content of free fatty acids (39.31 mg KOH/g of fat) was reported in the K control sample after 4-month storage compared to the value after 2-month storage (12.95 mg KOH/g of fat). The increase in all other samples was lower. The W2 sample was characterized by the lowest peroxide value (0.25 mEq/kg of fat) after 2-month storage; this value increased to 0.80 mEq/kg of fat after four months of cold storage. The TBARS value remained at a low level in all the samples during the first two months of storage. After that, it significantly ($p < 0.05$) increased to 2.35 mg MDA/kg of product in the control sample after four month storage; however, in the W1, W2, and W3 samples with probiotic bacteria, it increased to 1.81, 0.97, and 1.16 mg MDA/kg of product, respectively. A spectrophotometric assessment of the colour parameters of the product did not show significant differences ($p < 0.05$) among the L*, a*, b* parameters of all the samples during the refrigeration storage period.

It was proved that the probiotic bacteria, added to dry-fermented pork necks during the production process, affected the inhibition of oxidative changes in those products during ripening and four-month storage.

Key words: dry-fermented pork necks, probiotics, fat oxidation, storage ☒